

VELEUČILIŠTE U POŽEGI



STUDENT: Željka Hohnjec, MBS 1548/16

UTJECAJ ANTIOKSIDANSA I MIKROVALNOG ZAGRIJAVANJA NA ODRŽIVOST MJEŠAVINE SUNCOKRETOVOG I LANENOG ULJA

ZAVRŠNI RAD

Požega, 2019. godine.

VELEUČILIŠTE U POŽEGI

POLJOPRIVREDNI ODJEL

PREDDIPLOMSKI STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

**UTJECAJ ANTIOKSIDANSA I MIKROVALNOG
ZAGRIJAVANJA NA ODRŽIVOST MJEŠAVINE
SUNCOKRETOVOG I LANENOG ULJA**

ZAVRŠNI RAD

IZ KOLEGIJA TEHNOLOGIJA ULJA I MASTI

MENTOR: prof. dr. sc. Tihomir Moslavac

STUDENT: Željka Hohnjec

Matični broj studenta: 1548/16

Požega, 2019. godine

Sažetak:

Mikrovalno zagrijavanje je moderna metoda koja se danas često koristi u pripremi hrane. U ovom radu istraživao je utjecaj procesnih parametara mikrovalnog zagrijavanja i dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost mješavine hladno prešanog lanenog ulja i hladno prešanog suncokretovog ulja. Od prirodnih antioksidanasa korišten je ekstrakt ružmarina, a od sintetskih propil galat. Uzorci mješavine ulja zagrijavani su u mikrovalnoj pećnici kod konstantne snage u različitom vremenskom periodu. Također su uzorci zagrijavani kod različite snage uređaja i konstantnom vremenskom periodu. Rezultati ispitivanja prikazani su vrijednostima peroksidnog broja koji predstavlja stupanj oksidacijskog kvarenja mješavine ulja. Rezultati pokazuju da mikrovalnim zagrijavanjem mješavine ulja u vremenu 10-40 minuta, kao i kod porasta snage uređaja dolazi do porasta temperature i peroksidnog broja ulja. Veća stabilizacija mješavine lanenog i suncokretovog ulja postignuta je dodatkom propil galata.

Ključne riječi: laneno ulje, suncokretovo ulje, mikrovalno zagrijavanje, oksidacijska stabilnost, antioksidansi

Summary:

Microwave heating is a modern technology oftenly used nowadays in food preparation. In this paper, influence of microvawe heating proces parameter is explored and antioxidant supplement on to oxidation stability of admixture from cold pressed linseed oil and cold pressed sunflower oil. Of natural antioxidants rosemary extract was used, and of synthetic propyl gallate. Samples of oil admixture were heated int he microwave oven at a constant power in different time period. Samples were also heated at a different power, but with a constant time period. Results oft he experiment are shown in values troughout peroxide number which represents the degree of oxidative deterioration of oil admixture. Results show that heating the admixture of oil int he microwave oven in period between 10 and 40 minutes, rising the power of the oven will progressively come to a growth in temperature and peroxide number. Greater stabilization of linseed and sunflower oil are achieved with adding propyl gallate.

Key words: linseed oil, sunflower oil, microwave heating, oxidant stabilization, antioxidant

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	2
2.1. Sastav ulja i masti	2
Sistematizacija ulja i masti	2
2.2. Proizvodnja hladno prešanog biljnog ulja	3
Čišćenje	3
Sušenje	3
Ljuštenje	3
Mljevenje	4
Prešanje	4
2.3. Suncokret	5
2.3.1. Suncokretovo ulje	5
2.4. Lan	6
2.4.1. Laneno ulje	6
2.5. Kvarenje ulja i masti	7
2.5.1. Enzimski i mikrobiološki procesi	7
2.5.1.1. Hidrolitička razgradnja	7
2.5.1.2. β - ketooksidacija	7
2.5.2. Kemijske reakcije	8
2.5.2.1. Autoooksidacija	8
2.5.2.2. Termooksidacijske promjene	8
2.5.2.3. Reverzija	9
2.6. Stabilizacija biljnih ulja	9
2.6.1. Antioksidansi	9
Inaktivacija slobodnih radikala	10
2.6.1.1. Vrste antioksidanasa	11
2.6.2. Sinergisti	11
2.7. Metode određivanja stupnja oksidacije ulja	12
1.) Kemijske metode	13
a) Peroksidni broj (Pbr)	13
b) Slobodne masne kiseline (SMK)	13
c) Anisidinski broj (Abr)	14
c) Totox broj (TB)	14
2.) Fizikalne metode	14

a) Plinska kromatografija	14
b) Apsorpcija u UV dijelu spektra.....	15
c) Indeks refrakcije.....	15
3.) Organoleptičke (senzorske) metode	15
2.8. Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja.....	16
2.8.1. AOM metoda	16
2.8.2. Oven test	17
2.8.3. Test održivosti na 98°C.....	17
2.8.4. Metoda na bazi fluorescentnog svjetla.....	17
2.8.5. Rancimat test.....	17
2.9. Mikrovalno zagrijavanje.....	18
.....	19
2.9.1. Prednosti mikrovalnog zagrijavanja.....	19
3. MATERIJALI I METODE	20
3.1. Zadatak	20
3.2. Materijali	20
3.2.1. Biljna ulja	20
3.2.2. Antioksidansi	20
3.2.2.1. Ekstrakt ružmarina	20
3.2.2.2. Propil galat	21
3.3. Metode rada	23
3.3.1. Određivanje parametara kvalitete ulja	23
3.3.1.1. Određivanje peroksidnog broja po Wheeleru.....	23
3.3.1.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina	23
3.3.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja	24
3.3.2.1. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavanja	25
3.3.2.2. Utjecaj vremena mikrovalnog zagrijavanja.....	26
4. REZULTATI.....	27
5. RASPRAVA	30
6. ZAKLJUČCI	32
LITERATURA	33
POPIS SLIKA, TABLICA I KRATICA	35
IZJAVA O AUTORSTVU RADA	37

1. UVOD

U praksi se obično masti koje su krute pri sobnoj temperaturi nazivaju mastima, a masti koje su tekuće pri takvoj temperaturi nazivaju uljima. U sastavu čvrstih masti ima više zasićenih masnih kiselina, a u sastavu tekućih više nezasićenih. Ulja i masti imaju nekoliko značajnih bioloških funkcija u organizmu: odličan su izvor energije i esencijalnih nutrijenata, poboljšavaju osjećaj okusa i doprinose sitosti, sastavni su dio svih staničnih membrana, važni su sastojci stanica (transportno sredstvo za lipide u krvi), koriste se kao izolacijski materijal u potkožnom tkivu i oko unutarnjih organa. Jestiva biljna ulja su namirnice koje brzo podliježu neželjenim promjenama, npr. kemijske reakcije te enzimski i mikrobiološki procesi što rezultira kvarenjem ulja (Moslavac, 2013).

Ulja i masti imaju ograničeno vrijeme trajanja pa se već nakon kratkog vremena skladištenja javljaju neke promjene. Prema vrsti masti i uvjetima čuvanja kvarenje može biti oksidacijsko, hidrolitičko i mikrobiološko. Najčešće je oksidacijsko kvarenje ulja koje nastaje djelovanjem kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline iz masti, a pritom nastaju hidroperoksidi i peroksidi kao primarni produkti oksidacije masti. Oksidacijske promjene ubrzava prisutnost kisika iz zraka, povišena temperatura, svjetlost i tragovi metala. Najčešći čimbenici koji ubrzaju proces autooksidacije su utjecaj sastava masnih kiselina (ulja s više polinezasićenih masnih kiselina brže oksidiraju), uvjeti prerade ulja, temperatura, svjetlost, kisik i mikrokomponente ulja. Proces autooksidacije se ne može zaustaviti, ali se može usporiti antioksidansima. Antioksidansi mogu donirati vodikove atome slobodnom radikalu i konvertirati ih u stabilnije produkte. Od prirodnih antioksidanasa najpoznatiji su tokoferoli i ekstrakti začina raznih biljaka, posebno ružmarina, a od sintetskih butilhidroksitoluen, butilhidroksianisol i alkil esteri galne kiseline. Danas se primjenjuju razne metode i testovi kako bi se odredila oksidacijska stabilnost ulja i masti. Koristi se Schaal Oven test, AOM metoda (Swift test), test održivosti na 98°C, metode na bazi fluorescentnog svjetla te Rancimat test (Moslavac, 2013).

Cilj ovog završnog rada bio je ispitati utjecaj mikrovalnog zagrijavanja te dodatka prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina i sintetskog antioksidansa propil galata na oksidacijsku stabilnost mješavine hladno prešanoga lanenog ulja i hladno prešanog suncokretovog ulja.

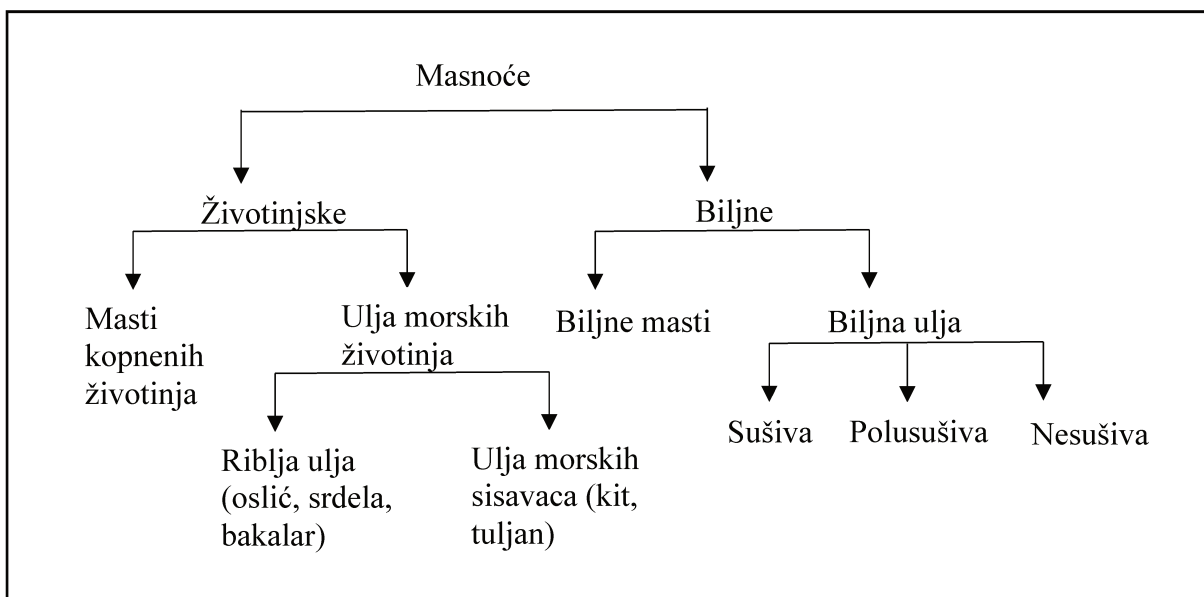
2. PREGLED LITERATURE

2.1. Sastav ulja i masti

Masti i ulja su esteri alkohola glicerola i masnih kiselina. Oni su glavni izvor energije, ali se danas sve veća pažnja posvećuje vrsti masti koju dnevno treba unositi u organizam, a ne samo količini. Količina masti koju dnevno treba unositi u organizam ovisi o ukupnim potrebama dnevnog unosa kilokalorija, a kreće se između 30 i 35% što naravno ovisi o dobi, spolu te fizičkoj aktivnosti svakog pojedinca (Oštrić -Matijašević i Turkulov, 1980).

Sistematizacija ulja i masti

Jestiva ulja i masti pripadaju grupi spojeva koji se zajednički nazivaju lipidi, a otapaju se u organskom otapalu heksanu. Prema konzistenciji pri sobnoj temperaturi ulja nalazimo u tekućem, a masti u krutom obliku. Prema porijeklu ulja su najčešće biljnog tj. vegetabilnog porijekla i dobivaju se prešanjem uljarica, dok su masti životinjskog, tj. animalnog porijekla te se dobivaju topljenjem masnog tkiva životinja (Oštrić - Matijašević i Turkulov, 1980).



Slika 1. Sistematizacija masnoća, (Moslavac, 2013).

2.2. Proizvodnja hladno prešanog biljnog ulja

Hladno prešana jestiva ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, samo mehaničkim postupcima, primjerice prešanjem, bez primjene topline. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 11/19).

Čišćenje

Čišćenje sjemenki uljarica se vrši prije ulaska u skladište te prije i poslije sušenja. Svrha čišćenja je ukloniti sve nečistoće koje mogu štetno djelovati na pogaču i sačmu, onečistiti dobiveno ulje ili uništiti strojeve. Nečistoće mogu biti prirodne (dijelovi biljke, šuplje sjemenke, ljuska bez jezgre...) ili strane (zemlja, kamenčići, prašina...). Čišćenje se može provesti na razne načine: prosijavanjem i rešetanjem, provjetravanjem, sortiranjem po obliku, čišćenjem magnetima, četkanjem ili odvajanjem sjemena flotacijom (Rac, 1964).

Sušenje

Sušenje je osnovni postupak za ispravno uskladištenje koji teži da se voda u sjemenkama uljarica snizi ispod kritične vlažnosti. Sušenje može biti prirodno i umjetno. Prirodno sušenje traje dulje te je to jedan od razloga zašto nema široku primjenu u praksi, dok se umjetno sušenje provodi na višim temperaturama i traje znatno kraće (Rac, 1964). Prema načinu dovoda i predaje topline materijalu koji se suši moguća su četiri načina sušenja: kontaktom (kondukcijom), konvekcijom (najčešće), radijacijom i električni (Moslavac, 2013).

Ljuštenje

Ljuske sjemenki ili kožica plodova sadrže male količine masti i malo drugih hranljivih sastojaka. One su uglavnom izgrađene od celuloznih i hemiceluloznih tvari. Iz ljuske se tijekom prerade ne mogu dobiti korisni sastojci pa se smatra da bi njezina prerada bila ekonomski neisplativa (Rac, 1964). Ljuštenje uljarica je tehnološka operacija koja se odvija neposredno prije daljnje prerade. Prije ljuštenja potrebno je sjemenke sortirati po veličini. Uklanjanjem ljuske ulje postaje pristupačnije i lakše se izdvaja. Prilikom ljuštenja može zaostati 8-10% ljuske zajedno s oljuštenom jezgrom kako bi kod prešanja lakše izlazilo ulje. Postoje 3 metode ljuštenja: a) biološke kod kojih se ljuska prepušta enzimskom raspadanju, b) kemijske kod kojih

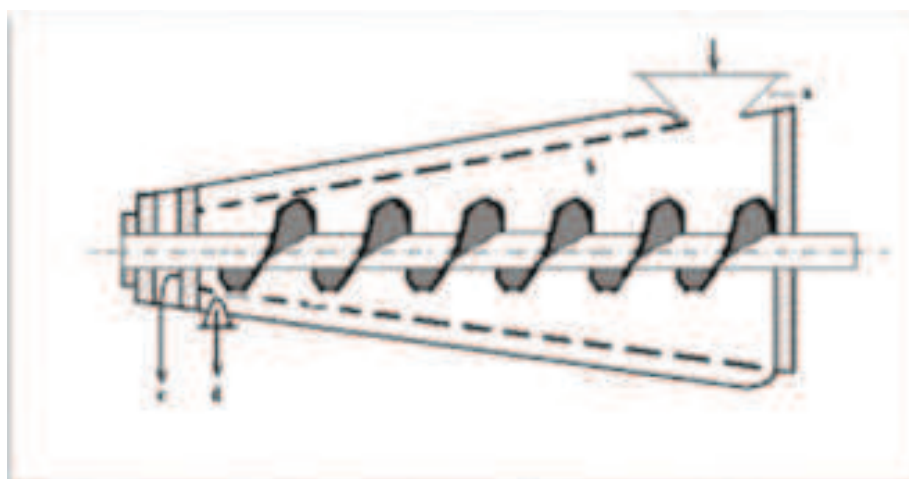
se dodaje sumporna kiselina radi lakšeg raspadanje ljuske i c) mehaničke metode koje se koriste u industrijskim pogonima, a obuhvaćaju dvije operacije: 1. razbijanje ljuske i oslobađanje jezgre, to se radi udaranjem sjemenke o čvrstu podlogu, 2. odvajanje ljuske od jezgre, primjenom sita ili strujanjem zraka (Moslavac, 2013).

Mljevenje

Mljevenje je postupak kojim se omogućuje dobivanje odgovarajuće granulacije usitnjenih sjemenki određenih uljarica, što u konačnici utječe na efikasnost prešanja. Mljeti se mogu cijele sjemenke sa ljuskom, samo jezgra ili kombinacijom. Razlikujemo grubo i finije mljevenje. Kod grubog mljevenja uljarice imaju velike stanice i tanke stjenke, a kod finijeg su sitne stanice, čvrsta stanična struktura te jake stjenke (Moslavac, 2013).

Prešanje

Prešanjem se iz prethodno pripremljene sirovine, primjenom visokih tlakova, izdvaja ulje. Postoje određeni zahtjevi kod prešanja, tako ulje nakon prešanja treba zadržati svoja prirodna svojstva, treba biti dobre kvalitete, ugodnog mirisa te okusa karakterističnog za sirovinu (Moslavac, 2013). Proces hladnog prešanja sastoji se od dvije osnovne faze. Prva faza uključuje čišćenje, ljuštenje i mljevenje sirovine (Dimić, 2005). Druga faza se temelji na izdvajanju ulja mehaničkim putem primjenom preša. Najčešće se koriste kontinuirane pužne preše, a mogu se koristiti za predprešanje i završno prešanje. Pužne preše koje se koriste za predprešanje imaju stupanj djelovanja 50-60% u odnosu na sadržaj ulja, dok za završno prešanje stupanj djelovanja preše iznosi 80-90% (Dimić i Turkulov, 2000).



Slika 1. Shema kontinuirane pužne preše, (Rac, 1964).

2.3. Suncokret

Suncokret je biljka porijeklom iz Amerike, a u Europu je donesen u 16. stoljeću nakon Kolumbova pohoda. Danas se suncokret uzgaja kao jedna od važnijih biljaka za dobivanje ulja, a često se sadi i kao ukrasna biljka. Ovo je biljka koja voli sunce i njemu izražava svoju privrženost tako što se tijekom dana okreće za istim, a navečer pogne glavu i čeka jutro (Rac, 1949).

Prema krupnoći sjemenja suncokret dijelimo u 3 skupine: sitnosjemeni (uljani) suncokret kod kojeg su sitnije sjemenke i jezgra potpuno popunjava ljusku, druga skupina je krupnosjemeni suncokret koji ima krupno i izduženo sjeme te oko 50% ljuske i kod njega jezgra u potpunosti ne ispunjava ljusku, a zadnja skupina je prijelazni suncokret koji ima karakteristike oba prethodno navedena tipa (Moslavac, 2013).

2.3.1. Suncokretovo ulje

Suncokretovo ulje dobiva se preradom suncokretovih sjemenki. Okrugle glavice suncokreta mogu sadržavati oko 1500 sjemenki koje su crne ili prugaste crno- bijele boje. Sjemenka suncokreta sastoji se od ljuske i jezgre u kojoj je sadržano ulje. U sjemenci se može nalaziti 38-45% ulja što ovisi o sorti (Čorbo, 2008). Suncokretovo je ulje cijenjeno zbog priyatnih senzorskih svojstava i visoke biološke vrijednosti te sastava masnih kiselina i visokog udjela vitamina E. U suncokretovom ulju se nalaze i voskovi koji su pri višim temperaturama topljivi u ulju, a pri nižim kristaliziraju te uzrokuju zamućenje ulja (Moslavac, 2013). Razlikujemo linolni tip suncokretovog ulja (standardni tip) i oleinski tip suncokretovog ulja koji može biti visokooleinski (udio oleinske kiseline 80-90%) i srednje oleinski (55-65%).



Slika 3. Sjemenke suncokreta i suncokretovo ulje, (Klopa i to, URL)

2.4. Lan

Uljani lan je kultura toplijih i suhih područja te se uzgaja više u južnim predjelima dok predivom lanu odgovara vlažnija klima. Uljani lan ima razvijeniji korijen nego predivi. Visina biljke lana kreće se od 20 do 120 cm, list je uzak i izdužen, a na vrhu zašiljen, presvučen je voštanom prevlakom. Plod je okruglog oblika. Ima 5 dijelova od kojih je svaki podijeljen na još 2 i u svakom dijelu nalazi se jedna sjemenka, znači, u jednom plodu može biti 10 sjemenki (Rac, 1949).

2.4.1. Laneno ulje

Hladno prešano laneno ulje ima tamno žutu boju i jakog je mirisa i okusa te sadrži visoki udio nezasićenih masnih kiselina. Kod ulja lana česta je pojava reverzije zbog sastava masnih kiselina. Ulje lana sadrži velike količine esencijalnih masnih kiselina (linolnu i linolensku kiselinu) i preporučeno je od strane nutricionista (Moslavac, 2013). Laneno ulje ima slabu održivost ili oksidacijsku stabilnost te se stoga ne koristi kod prženja hrane. Laneno ulje potrebno je čuvati u tamnim bocama i nakon otvaranja potrošiti u roku od 3 tjedna. Kao najbolja varijanta za organizam je u kombinaciji s bjelanjčevinama iz jogurta, obranog kravljeg mlijeka, sojinog i rižinog mlijeka, te svježeg kravljeg sira, zaključuje Šimetić u svom stručnom radu.



Slika 4. Sjemenke lana i laneno ulje, (Bauerfeind, URL)

2.5. Kvarenje ulja i masti

Masti i ulja imaju ograničen vijek trajanja te se sukladno tome nakon dužeg ili kraćeg vremena čuvanja javljaju nepoželjne promjene. Pravilno skladištenje te vrsta i kvaliteta ulja određuju načine odvijanja procesa kvarenja. Kvarenjem nastaju hlapljivi spojevi koji znatno narušavaju kvalitetu ulja te dovode do neugodnog mirisa i okusa, dolazi do stvaranja štetnih razgradnih produkata koji utječu na organoleptička svojstva ulja, a neki od produkata (peroksidi, polimeri) štetno utječu na zdravlje ljudi (Oštrić, Matijašević i Turkulov, 1980). Prema vrsti ulja i masti kao i uvjetima čuvanja kvarenje mogu uzrokovati enzimski i mikrobiološki procesi pa tada govorimo o hidrolitičkoj razgradnji i β -ketooksidaciji ili uzrok mogu biti kemijske reakcije te dolazi do autooksidacije, termooksidacijskih promjena i reverzije (Moslavac, 2013).

2.5.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

2.5.1.1. Hidrolitička razgradnja

Do ove vrste kvarenja dolazi u prisustvu vode i lipolitičkih enzima (lipaza). Pri temperaturi višoj od 80°C i nižim od -20°C dolazi do inaktivacije enzima te je hidrolitička razgradnja spriječena. To je reakcija kod koje dolazi do oslobađanja masnih kiselina iz molekule triglicerida usljed razgradnje na esterskoj vezi, zato se treba određivati udio slobodnih masnih kiselina (SMK) u ulju kako bi se utvrdila kiselost ulja (Rade, Mokrovčak i Štucelj, 2001).

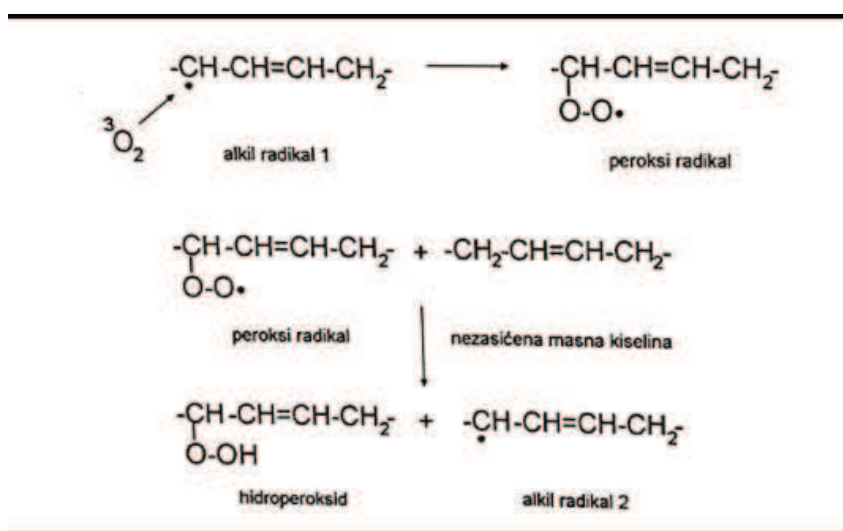
2.5.1.2. β - ketooksidacija

Ova vrsta kvarenja je karakteristična za ulja i masti u čijem sastavu prevladavaju masne kiseline (MK) srednjeg i kraćeg lanca. β - ketooksidacija nastaje djelovanjem mikroorganizama (plijesni *Aspergillus* i *Penicillium* te bakterija *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*). Posljedica tog djelovanja je stvaranje β -ketokiselina kao primarnih produkata i metil ketona kao sekundarnih produkata reakcije kvarenja ulja. Ovo kvarenje sprječava se na način da se stvore nepovoljni uvjeti za razvoj mikroorganizama, npr. pasterizacija, sterilizacija, dodatak određenih aditiva (Moslavac, 2013).

2.5.2. Kemijske reakcije

2.5.2.1. Autooksidacija

Autooksidacija biljnih ulja započinje na metilenskim (CH_2) skupinama koje se nalaze u α položaju u odnosu na dvostruku vezu u lancu nezasićenih masnih kiselina. Pretpostavlja se da se pod utjecajem topline, ultraljubičastog zračenja ili katalitičkim djelovanjem iona metala na metilnim skupinama izdvaja vodik i nastaje akril radikal masne kiseline. Zbog premještanja dvostruke veze iz cis- u trans- položaj slobodan elektron u akril radikal masne kiseline može se javiti na bilo kojem od četiri atoma ugljika. Vezanjem molekule na alkil radikale nastaju peroksi radikali koji ulaze u reakciju s drugim nezasićenim masnim kiselinama stvarajući pri tome hidroperokside i nove alkil radikale (Koprivnjak, 2006).



Slika 5. Nastajanje hidroperoksida i slobodnih radikala, (Koprivnjak, 2006).

2.5.2.2. Termooksidacijske promjene

Kod zagrijavanja ulja i masti na temperaturama iznad 150°C u prisustvu zraka, uz oksidaciju, dolazi i do termooksidacijskih promjena. Stupanj oksidacijskih promjena ovisi o vrsti masti, temperaturi i vremenu trajanja zagrijavanja. Poslije određenog vremena zagrijavanja pri višim temperaturama u masti će se, osim produkata oksidacije, naći i produkti termooksidacije (ciklične MK, dimeri i polimeri triglicerida, oksipolimeri i veći broj drugih

spojeva). Nezasićene masne kiseline, osobito linolna, su vrlo podložne stvaranju ovih polimera stoga se ulja koja sadrže veći udio istih nakon 10-20 sati zagrijavanja pri temperaturama 170-180°C ne smiju više koristiti za prženje. Što je stupanj nezasićenosti ulja veći, nastat će više produkata termooksidacije. Da bi se spriječile termooksidacijske promjene ulja koriste se različiti aditivi. Tijekom prženja hrane mijenja se nutritivna vrijednost ulja jer dolazi do gubitka polinezasićenih masnih kiselina (PUFA), ulje se termički i oksidacijski degradira, formiraju se hlapljive i nehlapljive tvari koje mijenjanju senzorska i funkcionalna svojstva ulja (Moslavac, 2013).

2.5.2.3. Reverzija

Reverzija je pojava koja je karakteristična za neka biljna ulja kod kojih se poslije kraćeg vremena čuvanja javlja neugodan miris na sirovinu (ili ribu) i veoma je naglašen prilikom zagrijavanja ulja. Najčešće se javlja kod sojinog i repičinog ulja. Nije poznat uzrok pojave reverzije kao ni sam način sprječavanja, ali se u praksi sprječava na dva načina: a) pravilnim odabirom parametara procesa rafinacije da bi se proizvelo što kvalitetnije ulje te dodatkom limunske kiseline i b) djelomično selektivnom hidrogenacijom ulja soje da bi se uklonila linolenska kiselina. Pojavu reverzije znatno ubrzava svjetlost (Oštrić - Matijašević & Turkulov, 1980).

2.6. Stabilizacija biljnih ulja

Oksidacijska stabilnost je vrijeme kroz koje se ulja i masti mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Na stabilnost ulja utječu sastav i kvaliteta ulja, uvjeti čuvanja i prerade, vrsta ambalaže, način skladištenja i dr. (Moslavac, 2013).

2.6.1. Antioksidansi

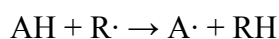
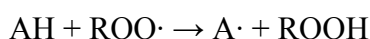
Antioksidansi su reducirajuće tvari koje usporavaju oksidacijsko kvarenje i produžuju trajnost ulja tri do šest puta, a dodaju se u koncentraciji od 0,005 do 0,02% za sintetske antioksidanse (Koprivnjak, 2006). Smatra se da antioksidansi sprječavaju oksidaciju preko dvije reakcije: kod prve antioksidans daje vodikov atom koji se veže na slobodni radikal peroksida ili radikal masne kiseline, a kod druge slobodni radikal antioksidansa se veže na slobodni radikal te se na taj način produžuje održivost ulja i masti. Antioksidans se dodaje

svježoj masti niskog peroksidnog broja jer će samo u tom slučaju spriječiti oksidaciju (Moslavac, 2013). Antioksidansi djeluju u uljima i mastima tako da onemogućuju stvaranje novih slobodnih radikala, neutraliziraju već stvorene radikale i popravljaju oštećenja nastala djelovanjem radikala.

Inaktivacija slobodnih radikala

Ona se ostvaruje putem amina ili fenola (AH) koji imaju sposobnost predaje atoma vodika slobodnim radikalima ($R\cdot$), a inaktivator postaje radikal niske reaktivnosti ($A\cdot$). Ovaj mehanizam djelovanja pokazuju fenoli i tokoferoli, a efikasan je u zaustavljanju procesa oksidacije kod malih koncentracija hidroperoksida.

Antioksidans (AH) donira atom vodika (H), koji se veže na slobodni radikal peroksida ($ROO\cdot$) ili radikal masne kiseline ($R\cdot$).



Dobiveni slobodni radikal antioksidansa ($A\cdot$) se veže na slobodni radikal ($ROO\cdot$ ili $R\cdot$) (Koprivnjak, 2006).

Navedene reakcije produžuju oksidacijsku stabilnost biljnih ulja jer nastaju stabilne molekule koje prekidaju lančanu reakciju oksidacije. Međutim, ukoliko je u uljima i mastima već započela autooksidacija, tj. već su nastali hidroperoksidi, dodatak antioksidansa neće imati značajnijeg učinka. Također, izuzetno je važno da vrijednost peroksidnog broja ulja bude manja od 1. Antioksidans inhibira autooksidaciju ulja dok se ne potroši, a koliko će trajati ovisi o vrsti i koncentraciji antioksidansa te o vrsti ulja i uvjetima čuvanja (Moslavac, 2013).

Antioksidacijsko djelovanje nekog antioksidansa izražava se kao antioksidacijski indeks. On pokazuje koliko je puta produžena održivost ili oksidacijska stabilnost ulja nakon dodatka antioksidansa.

$$AI = \frac{s_2}{s_1} \text{ (Jednadžba 1)}$$

Jednadžba 1. Izračunavanje antioksidacijskog djelovanja

S_2 – održivost masti s dodanim antioksidansom

S_1 – održivost masti bez dodanog antioksidansa

Kod nekih antioksidanasa, povećanjem koncentracije, povećava se i antioksidacijski indeks, a kod nekih to nije slučaj jer oni u većoj koncentraciji imaju obrnuto djelovanje, djeluju kao prooksidansi (npr. tokoferoli i neki fenolni antioksidansi) (Moslavac, 2013).

2.6.1.1. Vrste antioksidanasa

Danas je poznat velik broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa. Prirodni antioksidansi su stabilniji i zdravstveno sigurniji od sintetskih. Govoreći o prirodnim antioksidansima treba istaknuti tokole od kojih se najviše koriste tokoferoli i tokotrienoli. Mnoge biljke se koriste kao začini, posebno ružmarin i kadulja. Iz ružmarina je ekstrakcijom izdvojen antioksidans koji ima dobro djelovanje u biljnim uljima i animalnim mastima. Tokoferoli i tokotrienoli se pojavljuju u α , β , γ , δ oblicima, a razlikuju se u svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju (Swern, 1972). Uz prirodne antioksidanse koriste se i sintetski. Sintetski antioksidansi su uglavnom fenolni spojevi koji se dobivaju kemijskim putem i prirodno ih nema u hrani (Čorbo, 2008). Najkorišteniji sintetski antioksidansi su butil-hidroksianisol (BHA), butil-hidroksitoluen (BHT) i alkil esteri galne kiseline propil galat (PG), butil galat (BG), oktil galat (OG). Noviji antioksidans koji se koristi je butil-hidrokinon (TBHQ) koji se preporuča za stabilizaciju sirovih jestivih biljnih ulja (Čorbo, 2008).

Butil-hidroksianisol inhibira oksidacijske promjene na uljima i mastima uzorkovane djelovanjem kisika na masne kiseline. Topljiv je u mastima te stabilan u pečenim proizvodima (E-brojevi, 14.08.2019., URL)

Butil-hidroksitoluen je umjetni (sintetski) antioksidans koji inhibira oksidacijske promjene na biljnim uljima i mastima. Često se koristi u kombinaciji s TBHQ i BHA jer se njihovi učinci međusobno pojačavaju. Pojedina istraživanja su pokazala da djeluje kancerogeno te ga nije preporučeno često konzumirati (E-brojevi, 14.08.2019., URL)

Butil-hidrokinon je umjetni antioksidans. Proizvodi se kemijskom sintezom. Često se kombinira s BHA. Učinkovito stabilizira nezasićena biljna ulja i mnoge masti životinjskog podrijetla. Iako se smatra bezopasnim, mnoga su istraživanja pokazala da TBHQ može inducirati nastanak tumora, pogotovo tumor želuca (E-brojevi 14.08.2019., URL).

2.6.2. Sinergisti

Sinergisti se još nazivaju sekundarni antioksidansi jer ne mogu izravno provoditi slobodne radikale u stabilne molekule nego posredno usporavaju oksidaciju ulja i masti. Sinergisti su

spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali ako se dodaju uz neki antioksidans, produžuju njegovo djelovanje 1-3 puta i na taj način usporavaju oksidacijsko kvarenje ulja. Kod dodavanja synergista bitno je znati koji synergist ima synergističko djelovanje prema kojem antioksidansu. Synergisti se najčešće dodaju na kraju procesa dezodorizacije. Najkorišteniji su limunska, askorbinska i octena kiselina te lecitin (Moslavac, 2013).

Nije potpuno poznato djelovanje synergista na antioksidanse. Poznato je da synergisti imaju tri načina djelovanja:

1. Vežu na sebe tragove metala, inaktiviraju ih i isključuju njihovo prooksidacijsko djelovanje;
2. Daju vodikov atom antioksidansu, time ga regeneriraju i tako produžuju vrijeme njegovog djelovanja;
3. Spriječavaju djelovanje antioksidanasa na razgradnju peroksida (Koprivnjak, 2006).

Čimbenici koji ubrzavaju proces autooksidacije ulja nazivaju se prooksidansi. Djelovanje prooksidanasa je svojstveno po tome što skraćuju induksijski period autooksidacije ili ga potpuno uklanjaju i tako kataliziraju proces oksidacije. Sposobnost i brzina oksidacije ulja ovisi o njegovom sastavu (broju dvostrukih veza), ali i o nizu drugih čimbenika koji djeluju prooksidacijski, kao što su temperatura, svjetlost, tragovi metala i neki pigmenti te prisutnost slobodnih masnih kiselina (Oštrić –Matijašević i Turkulov, 1980).

2.7. Metode određivanja stupnja oksidacije ulja

Za određivanje stupnja oksidacije jestivih biljnih ulja i animalnih masti primjenjuje se više metoda koje zajedno daju precizniju vrijednost udjela primarnih i sekundarnih produkata oksidacije.

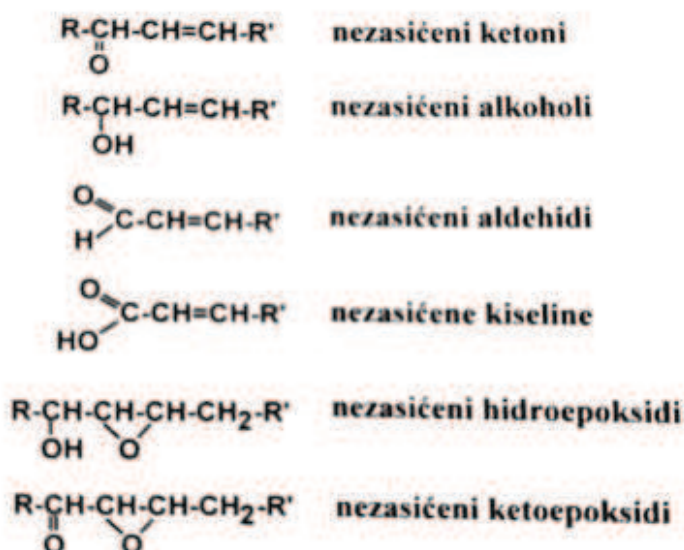
Kod određivanja stupnja oksidacije ulja i masti mogu se koristiti:

- 1.) Kemijske metode
- 2.) Fizikalne metode
- 3.) Organoleptičke (senzorske) metode (Oštrić - Matijašević i Turkulov, 1980).

1.) Kemijske metode

a) Peroksidni broj (Pbr)

Određivanje peroksidnog broja je jedna od najstarijih i najčešće primjenjivanih metoda za ispitivanje stupnja oksidacije ulja i masti. Peroksidni broj pokazuje količinu hidroperoksida i peroksida u analiziranom ulju (Jašić, 2009). Peroksidni broj se izražava u mili molima (mmol) aktivnog kisika vezanog na 1 kg ulja. Hladno prešano ulje i djevičansko ulje se smatra prikladnim za konzumaciju ako gornja granica ne prelazi vrijednost od 7 mmol O₂/kg, a kod rafiniranih ulja 5 mmol O₂/kg (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 11/2019). Hidroperoksidi su nestabilne molekule koje se brzo razgrađuju u različite tvari manje molekulske mase odnosno u sekundarne produkte oksidacije, a to su alkoholi, aldehidi, ketoni, kiseline, hidroepoksidi, ketoepoksidi kao što je prikazano i na slici (Koprivnjak, 2006).



Slika 6. Sekundarni produkti oksidacije masnih kiselina, (Koprivnjak, 2006).

b) Slobodne masne kiseline (SMK)

Slobodne masne kiseline u biljnim uljima i animalnim mastima ukazuju na njihov stupanj kiselosti. Njihov udio u uljima i mastima ovisi o vrsti kvarenja koja se naziva hidrolitička razgradnja, a nastaje djelovanjem enzima lipaze tijekom loših uvjeta skladištenja uljarica.

Pravilnikom o jestivim uljima i mastima je utvrđena max. vrijednost za pojedinu kategoriju jestivih ulja i masti (rafinirana ulja, hladno prešana ulja i djevičanska ulja).

c) Anisidinski broj (Abr)

Anisidinski broj omogućuje izravno određivanje količine nehlapljivih karbonilnih spojeva, tj. aldehida kao sekundarnih produkata oksidacije biljnih ulja nastalih razgradnjom hidroperoksida kao primarnih produkata oksidacije. Nastali nehlapljivi karbonilni spojevi negativno utječu na senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost jestivih biljnih ulja. Anisidinski broj određen je standardnom metodom (ISO 6885), a smatra se da gornja vrijednost ulja dobre kvalitete ne smije prelaziti vrijednost od 10. Abr pokazuje količinu sekundarnih produkata oksidacije, a određivanje se temelji na reakciji p- anisidina sa višim nezasićenim aldehydima (2,4-dienal i 2-enal) u kiselom mediju (octenoj kiselini), pri čemu nastaju Schiff-ove baze (Dimić i Turkulov, 2000).

c) Totox broj (TB)

Totox broj predstavlja ukupnu oksidacijsku vrijednost ulja koja se izračunava iz vrijednosti peroksidnog broja i anisidinskog broja

Formula za izračunavanje totox broja je:

$$TB = 2Pbr + Abr \text{ (Jednadžba 2.)}$$

Jednadžba 2. Izračunavanje totox broja

Totox broj se smatra vrlo korisnim podatkom jer se iz Pbr dobije podatak o trenutnom oksidacijskom stanju ulja, a preko Abr dobiva se „oksidacijska prošlost“ ulja (Dimić i Turkulov, 2000).

2.) Fizikalne metode

a) Plinska kromatografija

Plinska kromatografija je sve korištenija metoda za određivanje oksidacijskih promjena na nezasićenim MK. Plinska kromatografija se koristi za određivanje hlapljivih spojeva, najčešće

aldehida, koji nastaju oksidacijskom razgradnjom ulja i masti. Kod čistih ulja i masti plinska kromatografija se može uspješno koristiti za praćenje oksidacije dok je u kompleksnim lipidima praćenje otežano (Rade, Mokrovčak i Štucelj, 2001).

b) Apsorpcija u UV dijelu spektra

Produkti oksidacije polinezasićenih masnih kiselina pokazuju karakterističan spektar u ultravioletnom području. Primarni produkti oksidacije kao što su hidroperoksidi linolne kiseline i konjugirani dieni pokazuju apsorpciju na max. 232 nm, dok sekundarni produkti oksidacije (aldehidi i ketoni) te konjugirani trieni pokazuju apsorpcijski max. na 270 nm, navode Dimić i Turkulov, 2000.

c) Indeks refrakcije

Oksidacijske promjene ulja se mogu pratiti i promjenom indeksa refrakcije jer konjugirani dieni hidroperoksida i polimeri povećavaju indeks refrakcije (Rade, Mokrovčak i Štucelj, 2001).

Tablica 1. Fizikalne metode i ispitivani parametri za određivanje stupnja oksidacije masti i ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

Fizikalna metoda	Ispitivani parameter
UV-spektroskopija	Konjugirani dieni, trieni
IR-spektroskopija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehidi)
Plinska kromatografija	Hlapljivi spojevi
HPLC	Malonaldehidi i sekundarni produkti
Indeks refrakcije	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri, polarni spojevi

3.) Organoleptičke (senzorske) metode

Senzorsko ocjenjivanje biljnih ulja temelji se na određivanju pojave nepoželjnog, užeglog mirisa te okusa uzrokovanog nastankom sekundarnih produkata oksidacije. Organoleptičko

(senzorsko) ocjenjivanje biljnih ulja vrlo je važan pokazatelj oksidacijskog stanja ulja u svim laboratorijima gdje se provode analize ulja (Oštrić- Matijašević i Turkulov, 1980).

2.8. Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja

Oksidacijska stabilnost ili održivost je vrijeme za koje se ulja i masti mogu sačuvati od autooksidacije. Veoma je važno poznavanje održivosti sirovih i jestivih ulja i masti kako bi se moglo utvrditi vrijeme za koje se ti proizvodi mogu sačuvati bez narušavanja njihove kvalitete (Moslavac, 2013). Metode za određivanje održivosti ulja temelje se na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja utjecajem temperature i zraka. Kao održivost ulja uzima se vrijeme koje je potrebno da uzorak dostigne određenu vrijednost peroksidnog broja. Najčešće se u praksi koriste metode kod kojih se oksidacija ubrzava pod utjecajem temperature. Kod tih metoda može se odrediti održivost masti kroz nekoliko sati ili dana, ovisno o odabranoj metodi (Dimić i Turkulov, 2000).

Najčešće korištene metode i testovi su:

1. AOM metoda (Active Oxygen Method) ili Swift metoda
2. Oven test (Schaal Oven test)
3. Test održivosti na 98°C
4. Metoda na bazi fluorescentnog svijetla
5. Rancimat test

2.8.1. AOM metoda

Ova metoda predložena je od Wheeler-a, ali je kasnije razrađena i modificirana od strane drugih autora. Kod ove metode se uzorci ulja i masti, kroz koje prolazi struja zraka, zagrijavaju na 97,8°C te se u pravilnim vremenskim intervalima uzimaju uzorci i određuje se peroksidni broj. Uzorci se zagrijavaju tako dugo dok peroksidni broj ne dostigne određenu vrijednost. Održivost ulja se određuje do peroksidnog broja od 5 mmol O₂/kg za rafinirana ulja jer je to granica pri kojoj je ulje još uvijek dobre kvalitete (Moslavac, 2013).

2.8.2. Oven test

Oven test je analitička metoda kojom se ispituje oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja. Kod ove metode uzorci se drže u sušioniku na 60° ili 63° te se prati porast peroksidnog broja, ali i organoleptičke promjene masti (jestiva ulja obično 4 dana). Rezultati se prikazuju kao:

- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena držanja uzorka u termostatu (u danima) pri temperaturi 63°C (jestiva ulja obično četiri dana),
- broj dana za koji se postiže određena, unaprijed utvrđena vrijednost peroksidnog broja,
- vrijeme u danima za koje se pojavi užeglost i utvrdi senzorskim ispitivanjem (Dimić i Turkulov, 2000).

2.8.3. Test održivosti na 98°C

Određivanje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja primjenom testa održivosti na 98°C temelji se na određivanju peroksidnog broja (Pbr) u uzorcima koji se drže u sušioniku na 98°C. Pbr se određuje svakih sat vremena. Jedan sat testa održivosti na 98°C isto je kao 10-15 dana čuvanja ulja pri sobnoj temperaturi.

2.8.4. Metoda na bazi fluorescentnog svjetla

Kod ove metode koristi se utjecaj svjetla na brzinu oksidacije biljnih ulja. Primjenom ove metode uzorci ulja i masti se čuvaju u uređaju u kojoj je jačina fluorescentnog svjetla standardizirana i prate se oksidacijske promjene. Ova metoda se preporuča za praćenje održivosti različitih biljnih ulja kako bi se odredila njihova stabilnost i procjena roka trajanja (Moslavac, 2013).

2.8.5. Rancimat test

Test se bazira na ubrzanom kvarenju biljnih ulja pri višoj temperaturi (100°C, 110°C, 120°C) i propuhivanju zraka kroz uzorak pri čemu se induksijski period određuje na osnovu količine izdvojenih niže molekularnih isparljivih kiselina. Kod autooksidacije ulja na kraju induksijskog perioda (IP) nastaju znatne količine isparljivih kiselina, najveći dio mravlje, a u manjim količinama se stvaraju octena, propionska, maslačna i kapronska kiselina, kao i neki

niže molekularni spojevi. Uvođenjem ovih isparljivih spojeva iz reakcijske posude u destiliranu vodu i mjerenjem porasta provodljivosti indirektno se može pratiti tijek oksidacije ulja (Rade, Mokrovčak i Štucelj, 2001). Rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti biljnih ulja ovim testom prikazuju se vrijednostima indukcijski period (IP) u satima. Ako ulje ima veću vrijednost IP u satima znači da je ulje stabilnije, otpornije prema oksidacijskom kvarenju (Moslavac, 2013).

2.9. Mikrovalno zagrijavanje

Primjenjuje se kao alternativa klasičnom zagrijavanju, a temelji se na svojstvu tvari da apsorbira elektromagnetsku energiju i pretvara je u toplinu. Zagrijavanje mikrovalovima i radiofrekvencijama uključuje dva mehanizma: dielektrični i ionski. Dielektrično zagrijavanje je pojam koji se koristi kod primjene malih frekvencija na materijal smješten između dvije elektrode kroz koje prolazi struja. Kod dielektričnog zagrijavanja primjenjuje se frekvencije od 60 do 100 Hz. Zbog dipolnog karaktera molekule vode slijede električno polje koje je povezano s elektromagnetskim zračenjem koje oscilira pri visokim frekvencijama. Takvo gibanje molekula vode za posljedicu ima zagrijavanje (Lovrić, 2003). Mikrovalovi su oblik elektromagnetskih vibracija. Prijenos topline im ovisi o stupnju pobuđenosti molekula u mediju i frekvenciji polja kojemu je taj medij izložen. Zagrijavanje mikrovalovima se u industriji koristi za odmrzavanje, ali i za kuhanje te dehidrataciju dok je primjena na tekuće proizvode dosta ograničena i uglavnom se svodi na kuhanje mesnih i ribljih emulzija.

Dubina prodiranja mikrovalova je u vlažnim proizvodima ograničena na nekoliko centimetara, a u osnovi ovisi o primijenjenoj frekvenciji i sastavu proizvoda (Lovrić, 2003).

Pri obradi mikrovalovima važnu ulogu imaju dielektrična svojstva materijala, a to su relativna dielektrična konstanta i relativni gubitak dielektričnosti. Relativna dielektrična konstanta je sposobnost materijala da zadržava energiju, a relativni gubitak dielektričnosti je sposobnost materijala da troši energiju. Mikrovalovi se apsorbiraju od strane dielektričnog materijala, pri čemu dio svoje kinetičke energije predaju materijalu, a energija se pretvara u toplinu i materijal se zagrijava (Lovrić, 2003).

Postoji velika razlika između konvencionalnih metoda zagrijavanja poput konvekcije, kondukcije i radijacije te mikrovalnog zagrijavanja. Zagrijavanje mikrovalovima je volumetrijsko i elektromagnetsko polje zagrijava cijeli materijal istodobno.



Slika 7. Shematski prikaz klasičnog i mikrovalnog zagrijavanja, (FKIT, URL)

2.9.1. Prednosti mikrovalnog zagrijavanja

Prednosti mikrovalnog zagrijavanja su sljedeće:

- veća brzina sušenja,
- jednoliko zagrijavanje materijala,
- djelotvorna ušteda energije (uređaj nije zagrijan i ne mora se hladiti, energija reagira direktno s materijalom i ne troši se za zagrijavanje okolnog zraka i uređaja),
- brza kontrola zagrijavanja (trenutačno paljenje i gašenje bez prethodnog zagrijavanja),
- selektivno zagrijavanje (elektromagnetsko polje reagira s vlagom, a ne s materijalom, pa se direktno zagrijava i uklanja samo vlaga, dok se nosač i materijal zagrijavaju primarno kondukcijom, ne zagrijava se ništa drugo),
- ubrzavanje mnogih reakcija unutarnjim zagrijavanjem,
- izbjegnuto je oštećenje materijala,
- može se poboljšati kvaliteta produkta,
- ne razvijaju se visoke temperature površine materijala.

Za razliku od tradicionalnih metoda kuhanja kod kojih se toplina prenosi na hranu, kod kuhanja mikrovalovima se stvara u hrani i zatim širi prema van. Hrana u mikrovalnoj pećnici zagrijava se pomoću mikrovalova koji se usmjeravaju u namirnicu. Prolaskom mikrovalova kroz namirnicu dolazi do usmjeravanja i trenja molekula vode koje se nalaze u namirnici. Mikrovalovi posjeduju manju moć prodiranja u materijal uz znatno veći intenzitet zagrijavanja (Lovrić, 2003).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Zadatak

Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina i sintetskog antioksidansa propil galata te mikrovalnog zagrijavanja na održivost ili oksidacijsku stabilnost mješavine hladno prešanog lanenog ulja i hladno prešanog suncokretovog ulja.

3.2. Materijali

3.2.1. Biljna ulja

Za izradu ovog završnog rada korištene su dvije vrste jestivih biljnih ulja:

- Hladno prešano laneno ulje, proizvedeno u laboratoriju za tehnologiju ulja i masti (PTF Osijek),
- Hladno prešano suncokretovo ulje (linolni tip), proizvedeno u laboratoriju za tehnologiju ulja i masti (PTF Osijek).

3.2.2. Antioksidansi

Kod ispitivanja oksidacijske stabilnosti mješavine hladno prešanog lanenog ulja i hladno prešanog suncokretovog ulja s dodatkom antioksidansa, korišteni su sljedeći antioksidansi:

- prirodni antioksidans ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less CS,
- sintetski antioksidans propil galat (PG).

3.2.2.1. Ekstrakt ružmarina

Ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS proizveden je u firmi NATUREX u Francuskoj. To je ekstrakt dobiven od listova ružmarina, u praškastom je obliku, bijelo- žućkaste boje i topljiv je u vodi. Aktivne komponente uključuju fenolne kiseline, diterpene i flavonoide. Udio karnosolne kiseline je od 18 do 22%, zaštitni faktor (PF) je veći od 12%. Suha tvar ekstrakta je od 92 do 98%. U ispitivanju je upotrebljen u udjelu 0,2% računato na masu ulja.

3.2.2.2. Propil galat

Propil galat (PG) je sintetski antioksidans E310, praškastog je oblika, sivo-bijele boje, bez mirisa. Točka topljenja je 146 do 150°C, a preporučena količina doziranja je od 20 do 200 ppm. U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu 0,01% računato na ukupnu masu ulja.



Slika 8. Antioksidans PG i OxyLess CS, (Izvor: Autor)

3.2.3. Priprema uzorka

Uzorci mješavine ulja, masa uzorka je 30 grama, za ovo ispitivanje pripremljeni su na sljedeći način:

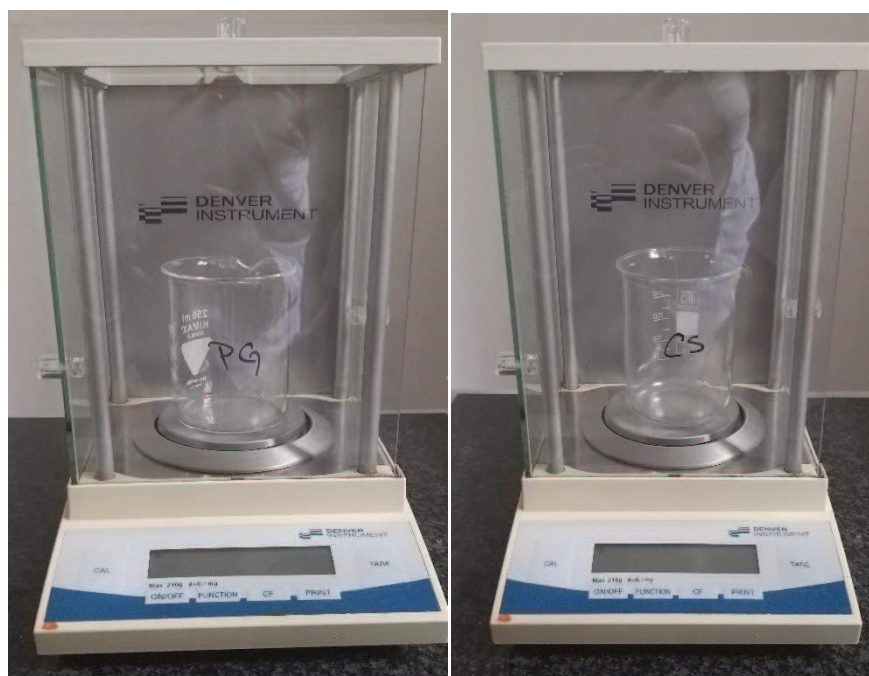
1. 15% hladno prešano suncokretovo ulje + 85% hladno prešano laneno ulje (4,5 g suncokretovog ulja + 25,5 g lanenog ulja),
2. 30% hladno prešano suncokretovo ulje + 70% hladno prešano laneno ulje (9 g suncokretovog ulja + 21 g lanenog ulja),
3. 50% hladno prešano suncokretovo ulje + 50% hladno prešano laneno ulje (15 g suncokretovog ulja + 15 g lanenog ulja),
4. 30% hladno prešano suncokretovo ulje + 70% hladno prešano laneno ulje + 0,2% OxyLess CS (9 g suncokretovog ulja + 21 g lanenog ulja),
5. 30% hladno prešano suncokretovo ulje + 70% hladno prešano laneno ulje + 0,01% PG (9 g suncokretovog ulja + 21 g lanenog ulja).

Prvi, drugi i treći uzorak radili smo koristeći dvije vrste navedenog ulja u spomenutim omjerima. Kod uzoraka 4 i 5 s dodatkom PG i OxyLess CS prvo smo izvagali određenu količinu antioksidansa, a potom dodali mješavinu ulja te zagrijavali uz miješanje na rešou kod 70°C.

Kad smo postigli zadanu temperaturu ulja, održavali smo je 30 minuta kako bi se antioksidans otopio u ulju.



Slika 9. Pripremljeni uzorci za analizu, (Izvor: Autor)



Slika 10. Vaganje antioksidanasa, (Izvor: Autor)

3.3. Metode rada

3.3.1. Određivanje parametara kvalitete ulja

3.3.1.1. Određivanje peroksidnog broja po Wheeleru

Peroksidni broj (Pbr) predstavlja indikator svježine, tj. užeglosti nekog ulja ili masti. Čuvanjem ulja ili masti pod utjecajem prooksidanasa (kisik iz zraka, toplina, svjetlost, tragovi metala) dolazi do vezanja kisika na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina i tako nastaju prooksidansi, tj. hidroperoksidi. Oni nastaju u prvoj fazi kvarenja masti, tzv. indukcijskom periodu kada još nisu vidljive organoleptičke promjene. Druga faza naziva se period aktivne oksidacije, u toj fazi se razgrađuju peroksidi, tj. hidroperoksidi i nastaju oksii- i keto kiseline, aldehidi i ketoni koji su nositelji neugodnog mirisa užeglih masti i ulja. Standardna metoda određivanja (ISO 3960:2007) se zasniva na sposobnosti peroksida da oslobode jod iz otopine kalijevog jodida (KI) koji se zatim određuje titracijom s otopinom natrij tiosulfata.

Formula za izračunavanje peroksidnog broja je:

$$Pbr = \frac{(v_1 - v_0) \cdot 5}{m} (mmol O_2 / kg) \text{ (Jednadžba 3)}$$

Jednadžba 3. Izračunavanje peroksidnog broja

V₁- volumen otopine Na₂S₂O₃ (c=0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka ulja (mL),

V₂- volumen otopine Na₂S₂O₃ utrošen za titraciju slijepe probe (mL),

m- masa uzorka (g).

3.3.1.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina

Masti i ulja osim masnih kiselina (MK) vezanih uz triacilglicerole sadrže i određenu količinu slobodnih MK. Udio slobodnih MK u ulju ili masti ovisi o upotrebljenim sirovinama, načinu dobivanja i uvjetima skladištenja, a može se izraziti kao:

- Kiselinski broj
- Kiselinski stupanj: mL 1M KOH (ili NaOH) potrebnog za neutralizaciju slobodnih MK u 100 g ulja ili masti
- Postotak oleinske kiseline

Kiselost ulja izražena kao % slobodnih masnih kiselina određena je standardnom metodom (ISO 660: 1996), a izračunava se prema slijedećoj formuli:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \cdot c \cdot M / 10 \cdot m \text{ (Jednadžba 4)}$$

Jednadžba 4. Izračunavanje slobodnih masnih kiselina

V - utrošak otopine natrij hidroksida za titraciju uzorka ulja (mL),

c - koncentracija otopine NaOH za titraciju, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$,

M - molekulska masa oleinske kiseline, $M = 282 \text{ g/mol}$,

m - masa uzorka (g).

3.3.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

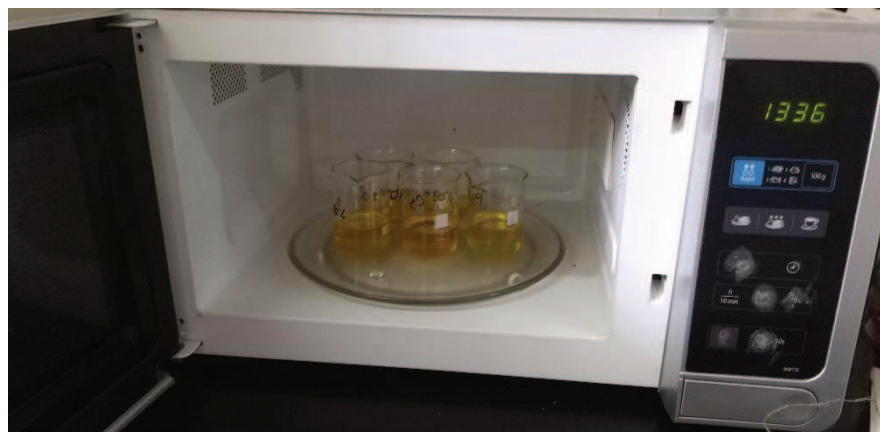
U čašice je izvagano po 30 g ulja mješavine suncokretovog i lanenog ulja i zagrijavano je dok nije postignuta temperatura 70°C . Nakon dostignute temperature u ulje se dodaju antioksidansi. Tako pripremljeni uzorak zagrijavan je još 30 minuta na temperaturi 70°C uz stalno miješanje. Nakon toga uzorak se hladi na sobnu temperaturu i stavlja u mikrovalnu pećnicu. U ispitivanju je korištena mikrovalna pećnica firme Samsung Electronics, model MW73E, izlazne snage od 100 W do 800 W. Kada se izvadi uzorak ulja iz pećnice izmjeri se temperatura tretiranog ulja, izdvoji se uzorak od 1 g ulja u tikvicu za određivanje peroksidnog broja kao pokazatelja stupnja oksidacije ulja. Temperatura tretiranog ulja se mjeri digitalnim termometrom.



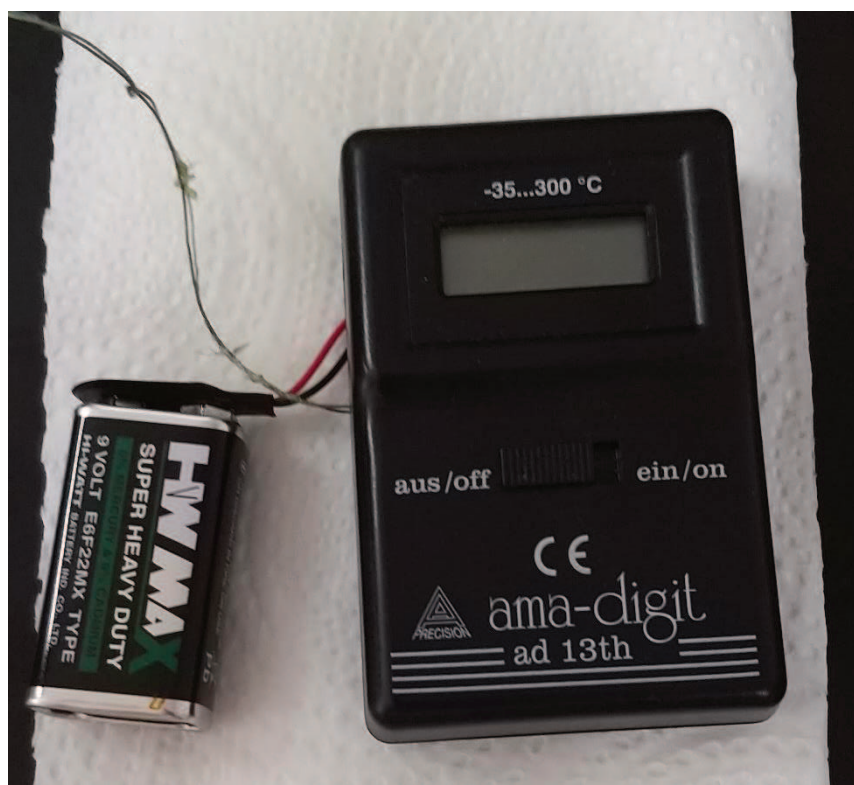
Slika 11. Zagrijavanje ulja uz dodatak antioksidansa, (Izvor: Autor)

3.3.2.1. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavanja

Ispitivana mješavina ulja se zagrijava u mikrovalnoj pećnici kod različitih izlaznih snaga uređaja: 180W, 300W, 450W i 600W u vremenu trajanja od 10 minuta. Za svaku sljedeću korištenu snagu rada pećnice uzima se drugi prethodno pripremljeni uzorak mješavine ulja.



Slika 12. Uzorci ulja u mikrovalnoj pećnici, (Izvor: Autor)



Slika 13. Digitalni termometar, (Izvor: Autor)

3.3.2.2. Utjecaj vremena mikrovalnog zagrijavanja

Uzorci mješavine ulja se zagrijava u mikrovalnoj pećnici kod snage 300W u različitom vremenu trajanja od 10 min, 20 min, 30 min i 40 min. Uzorak ulja se nakon 10 minuta tretiranja kod ove snage izvadi iz pećnice, izmjeri se temperatura i uzima se uzorak za određivanja Pbr, ponovno se vraća u pećnicu te se zagrijava narednih 10 minuta i tako do ukupnog vremena tretiranja od 40 minuta. Dakle, oksidacijska stabilnost uzorka ulja prikazuje se kao vrijednost peroksidnog broja određivana svakih 10 minuta tijekom kontinuiranog zagrijavanja uzorka ulja u trajanju od 40 minuta kod konstantne snage uređaja.

4. REZULTATI

Tablica 2. Osnovni parametri kvalitete ispitivanih ulja

Uzorak	Pbr (mmol O ₂ /kg)	SMK (% oleinske kiseline)
HP laneno ulje	0	0,39
HP suncokretovo ulje	2,68	0,33
15% HP suncokretovo ulje + 85% HP laneno ulje	0,48	0,39
30% HP suncokretovo ulje + 70% HP laneno ulje	0,98	0,33
50% HP suncokretovo ulje + 50 % HP laneno ulje	1,18	0,33

HP – hladno prešano

Tablica 3. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavanja, kod 10 min tretiranja, na oksidacijsku stabilnost mješavine ulja, sa i bez dodatka antioksidansa

		Snaga uređaja			
Uzorci		180 W	300 W	450 W	600 W
15% HP suncokretovo ulje + 85% HP laneno ulje	T (°C)	98	131	183	228
	Pbr (mmolO ₂ /kg)	0,49	1,03	1,13	1,29
30% HP suncokretovo ulje + 70% HP laneno ulje	T	90	123	170	217
	Pbr	1,00	1,50	1,83	0,98
50% HP suncokretovo ulje + 50 % HP laneno ulje	T	109	119	176	212
	Pbr	1,54	1,93	2,08	1,45
30% HP suncokretovo ulje + 70 % HP laneno ulje + 0,2% OxyLess CS	T	94	130	189	213
	Pbr	1,00	1,21	1,49	0,49
30% HP suncokretovo ulje + 70% HP laneno ulje + 0,01% PG	T	93	121	192	212
	Pbr	0,97	1,01	1,27	0,97

Tablica 4. Utjecaj vremena i temperature mikrovalnog zagrijavanja, kod snage uređaja 300 W, na oksidacijsku stabilnost mješavine ulja, sa i bez dodatka antioksidansa

Uzorci		Vrijeme mikrovalnog zagrijavanja (min)			
		10	20	30	40
15% HP suncokretovo ulje + 85% HP laneno ulje	T (°C)	131	148	173	177
	Pbr (mmolO ₂ /kg)	1,03	1,19	1,51	1,72
30% HP suncokretovo ulje + 70% HP laneno ulje	T	123	160	169	178
	Pbr	1,50	1,64	2,36	2,46
50% HP suncokretovo ulje + 50 % HP laneno ulje	T	119	145	168	180
	Pbr	1,93	2,65	3,02	3,19
30% HP suncokretovo ulje + 70 % HP laneno ulje + 0,2% OxyLess CS	T	130	157	171	172
	Pbr	1,21	1,39	1,56	1,68
30% HP suncokretovo ulje + 70% HP laneno ulje + 0,01% PG	T	121	147	166	177
	Pbr	1,01	1,20	1,44	1,43

5. RASPRAVA

U tablici 2 prikazani su osnovni parametri kvalitete hladno prešanog lanenog ulja, hladno prešanog suncokretovog ulja (linolni tip) i njihove mješavine: peroksidni broj (Pbr) i slobodne masne kiseline (SMK). Izračunate vrijednosti ovih parametara kvalitete ukazuju na to da su laneno ulje i suncokretovo ulje dobre kvalitete jer su ispitivani parametri u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/2019). Dodatkom većeg udjela suncokretovog ulja (15%, 30%, 50%) u laneno ulje došlo je do porasta vrijednosti Pbr mješavine navedenih ulja, a vrijednost SMK se nije znatno promjenila.

Rezultati ispitivanja utjecaja snage uređaja (180 W, 300 W, 450 W, 600 W) mikrovalne pećnice te dodatka prirodnog i sintetskog antioksidansa na oksidacijsku stabilnost mješavine ulja vidljivi su u tablici 3. Stupanj oksidacijskog kvarenja mješavine ulja tijekom provedbe testa prikazan je peroksidnim brojem (Pbr). Mikrovalnim zagrijavanjem mješavine ulja s dodatkom 15% suncokretovog ulja, kod snage uređaja 180 W tijekom 10 minuta tretiranja dobivena je vrijednost peroksidnog broja 0,49 mmol O₂/kg. Povećanjem snage mikrovalne pećnice na 300 W, 450 W i 600 W dolazi do povećanja temperature ulja što rezultira i porastom Pbr. Zagrijavanjem mješavine ulja sa dodatkom 30% suncokretovog ulja u laneno ulje i porastom snage uređaja na 300 W i 450 W došlo je do porasta Pbr u odnosu na dodatak 15% suncokretovog ulja. Razlog tome je vjerojatno u sastavu masnih kiselina suncokretovog ulja gdje dominira linolna masna kiselina koja je vrlo osjetljiva na oksidacijsko kvarenje. Također početni Pbr ovog ulja je 2,68 mmol O₂/kg, znači veći od lanenog ulja (Pbr je 0 mmol O₂/kg) pa stvoreni primarni produkti oksidacijskog kvarenja (peroksidi i hidroperoksidi) ubrzavaju oksidaciju ove mješavine ulja. Ista pojava zapažena je dodatkom još većeg udjela suncokretovog ulja (50%) u laneno ulje, porastom snage uređaja povećava se i Pbr mješavine ulja. Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina (tip OxyLess CS) u udjelu 0,2% u mješavinu ulja s dodatkom 30% suncokretovog ulja u laneno ulje došlo je do porasta Pbr kod 300 W (2,21 mmolO₂/kg), a kod veće snage uređaja 450 W i 600 W do smanjenja Pbr u odnosu na istraživanje kod mješavine ulja bez dodatka ekstrakta ružmarina. To znači da ovaj antioksidans uspješno povećava održivost, stabilnost ove mješavine ulja tijekom mikrovalnog zagrijavanja kod porasta snage uređaja. Primjenom sintetskog antioksidansa propil galata (PG) udjela 0,01%, u mješavinu ulja sa 30% suncokretovog ulja u lanenom ulju dolazi do još većeg sniženja Pbr ulja što ukazuje na još efikasniju zaštitu ovog antioksidansa u stabilizaciji ove mješavine ulja.

U tablici 4 prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja vremena mikrovalnog zagrijavanja (10, 20, 30, 40 minuta), kod konstantne snage uređaja 300 W, te dodatka ispitivanih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost mješavine ulja. Mikrovalnim zagrijavanjem mješavine ulja u navedenom vremenskom periodu zapažen je postepeni porast vrijednosti temperature i peroksidnog broja. Nakon 40 min zagrijavanja mješavine ulja sa 15% suncokretovog ulja u lanenom ulju, dobivena je vrijednost Pbr 1,72 mmol O₂/kg. Dodatkom 30% i 50% suncokretovog ulja u laneno ulje dobivena je mješavina koja tijekom mikrovalnog zagrijavanja u navedenom vremenu tretiranja pokazuje porast Pbr, znači povećava se oksidacijsko kvarenje. Korištenjem sintetskog antioksidansa PG (0,01%) postigla se bolja stabilizacija mješavine ulja sa 30% suncokretovog ulja, nakon 40 min. mikrovalnog zagrijavanja Pbr je imao manju vrijednost 1,43 mmol O₂/kg u odnosu na uzorak (bez dodanog antioksidansa Pbr je 2,56 mmol O₂/kg). Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina tip OxyLess CS (0,2%) u ovu mješavinu ulja došlo je također do sniženja vrijednosti Pbr u odnosu na kontrolni uzorak tijekom zagrijavanja mikrovalovima u ispitivanom vremenskom periodu, nakon 40 min tretiranja Pbr ima vrijednost 1,68 mmol O₂/kg. Ovo sniženje Pbr pokazuje da ovaj antioksidans također stabilizira mješavinu ulje, štiti ga od oksidacijskog kvarenja. Rezultati pokazuju da propil galat efikasnije štiti ovu mješavinu ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na ekstrakt ružmarina u navedenim koncentracijama.

6. ZAKLJUČCI

Parametri mikrovalnog zagrijavanja (snaga uređaja, vrijeme tretiranja), kao i dodatak antioksidansa ekstrakta ružmarina i propil galata utječu na održivost ili oksidacijsku stabilnost mješavine hladno prešanog suncokretovog ulja i hladno prešanog lanenog ulja.

Mješavina ulja s većim udjelom suncokretovog ulja u lanenom ulju postiže veće vrijednosti Pbr što govori o smanjenju održivosti mješavine ulja.

Porastom snage uređaja sa 180 W na 300 W, 450 W i 600 W kod 10 min mikrovalnog zagrijavanja, povećava se temperatura i peroksidni broj mješavine ulja.

Prirodni antioksidans ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS kao i sintetski propil galat povećavaju zaštitu mješavine ulja (s dodatkom 30% suncokretovog ulja) od oksidacijskog kvarenja tijekom porasta snage mikrovalne pećnice.

Porastom vremena tretiranja mješavine ulja, sa i bez dodanog antioksidansa, mikrovalovima od 10 do 40 minuta, kod snage uređaja 300 W, postepeno se povećava temperatura i peroksidni broj ulja što ukazuje na ubrzano oksidacijsko kvarenje.

Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina tip OxyLess CS u ovu mješavinu ulja došlo je do sniženja vrijednosti Pbr u odnosu na kontrolni uzorak tijekom zagrijavanja mikrovalovima u ispitivanom vremenskom periodu.

Propil galat efikasnije štiti ovu mješavinu ulja od oksidacijskog kvarenja tijekom 40 min mikrovalnog zagrijavanja kod 300 W u odnosu na ekstrakt ružmarina u navedenim koncentracijama.

LITERATURA

Knjige

1. Čorbo, S. (2008) *Tehnologija ulja i masti*. Sarajevo: Poljoprivredni prehrambeni fakultet Univerziteta u Sarajevu
2. Dimić, E. (2005) *Hladno ceđena ulja*. Novi Sad: Tehnološki fakultet, str. 88-91
3. Dimić, E., Turkulov, J. (2000) *Kontrola kvalitete u tehnologiji jestivih ulja*. Novi Sad: Tehnološki fakultet
4. Jašić, M. (2009) *Lipidi*. Tuzla: Tehnološki fakultet
5. Koprivnjak, O. (2006) *Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola*. Poreč: MIH d.o.o., str. 18-27
6. Lovrić, T. (2003) *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. Zagreb: Hinus, str. 274-281
7. Moslavac, T. (2013) *Tehnologija ulja i masti: nastavni materijali*. Osijek: Prehrambeno tehnološki fakultet
8. Oštrić- Matijašević, B., Turkulov, J. (1980) *Tehnologija ulja i masti 1. dio*. Novi Sad: Tehnološki fakultet <https://www.tehnologijahrane.com/knjiga/tehnologija-ulja-i-masti-i-deo#toc-vanost-masti-u-ishrani>
9. Rac, M. (1949) *Tehnologija biljnih ulja*. Beograd: Izdavačko poduzeće industrijska knjiga, str. 63-68; 77-80
10. Rade, D., Mokrovčak, Ž., Štucelj, D. (2001) *priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida*. Zagreb: Durieux
11. Swern, D. (1972) *Industrijski proizvodi ulja i masti po Bailey-u*. Zagreb: Nakladni zavod Znanje

Stručni radovi

1. Šimetić, S. (2008) *Lan u proizvodnji i upotrebi*. Stručni rad. Osijek: Zavod za sjemenarstvo i rasadničarstvo

Pravni izvori

1. Narodne novine (2019) *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Zagreb: Narodne novine d.d. NN 11/19

Mrežne stranice

1. Agroklub, URL: <https://www.agroklub.com/sortnalista/uljaricepredivobilje/suncokret84/> [pristup: 25.7. 2019.]
2. Agroklub, URL: <https://www.agroklub.com/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/lan-85/> [pristup: 25.7. 2019.]
3. Bauerfeind, 2016, URL: <https://bauerfeind.hr/laneno-ulje-lijek/> [pristup: 25.7. 2019.]
4. BHA, URL: <https://e-brojevi.udd.hr/320.htm> [pristup: 29.7. 2019.]
5. BTH, URL: <https://e-brojevi.udd.hr/321.htm> [pristup: 29.7. 2019.]
6. FKIT, n.d., URL: https://www.google.com/search?q=mikrovalno+zagrijavanje&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwi5muOOxqrkAhVkoosKHW3PB0oQ_AUIESgB#imgc=XlM1tSLNFSFdCM: [pristup: 26.7. 2019.]
7. Klopa i to, 2018, URL: <http://klopaito.ba/blog/254/suncokretovo-ulje> [pristup:25.7.2019.]
8. Masti, ulja i voskovi- kemija 8, n.d. URL: <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/7b5e1fe5-86e2-4142-af6c-5197c4a08148/kemija-8/m04/j04/index.html> [pristup: 29.7. 2019.]
9. TBHQ, URL: <https://e-brojevi.udd.hr/319.htm> [pristup: 29.7. 2019.]

POPIS SLIKA, TABLICA I KRATICA

POPIS SLIKA

- Slika 1. Sistematizacija masnoća
- Slika 2. Shema kontinuirane pužne preše
- Slika 3. Sjemenka suncokreta i suncokretovo ulje
- Slika 4. Sjemenka lana i laneno ulje
- Slika 5. Nastajanje hidroperoksida i slobodnih radikala
- Slika 6. Sekundarni produkti oksidacije MK
- Slika 7. Shematski prikaz klasičnog i mikrovalnog zagrijavanja
- Slika 8. Antioksidansi PG i OxyLess CS
- Slika 9. Pripremljeni uzorci za analizu
- Slika 10. Vaganje antioksidansa
- Slika 11. zagrijavanje ulja uz dodatak antioksidansa
- Slika 12. Uzorci ulja u mikrovalnoj pećnici
- Slika 13. Digitalni termometar

POPIS TABLICA

- Tablica 1. Fizikalne metode i ispitivani parametri za određivanje stupnja oksidacije masti i ulja
- Tablica 2. Osnovni parametri kvalitete ispitivanih ulja
- Tablica 3. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavanja, kod 10 minuta tretiranja, na oksidacijsku stabilnost mješavine ulja, sa i bez dodataka antioksidansa
- Tablica 4. Utjecaj vremena i mikrovalnog zagrijavanja, kod snage uređaja 300W, na oksidacijsku stabilnost mješavine ulja, sa i bez dodataka antioksidansa

POPIS KRATICA

- A- Polinezasićeni spoj, npr. bedakaroten
- AH- amin ili fenol
- BHA- butil-hidroksianisol
- BTH- butil-hidroksitoluol
- CS- ekstrakt ružmarina
- g- gram
- HP- hladno prešano

Hz- herz

KOH- kalijev hidroksid

Kg- kilogram

M-mol

MK- masne kiseline

M.o.-mikroorganizam

NaOH- Natrijev hidroksid

NN- Narodne novine

PG- propil galat

SMK- slobodne masne kiseline

TBHQ- tert- butilhidrokinon

URL – UniformResourceLocator, adresa web stranice u online svijetu

IZJAVA O AUTORSTVU RADA

Ja, Željka Hohnjec, pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor završnog rada pod naslovom **Utjecaj antioksidanasa i mikrovalnog djelovanja na održivost mješavine suncokretovog i lanenog ulja** te da u navedenom radu nisu na nedozvoljen način korišteni dijelovi tuđih radova.

U Požegi, dan, mjesec, godina.

Željka Hohnjec
